

成人T細胞白血病リンパ腫（ATLL）における Carbonic Anhydrase IX（CA9）の造腫瘍性に関する 研究

著者	那須 健太郎
号	85
学位授与機関	Tohoku University
学位授与番号	医博第3521号
URL	http://hdl.handle.net/10097/00097158

(書式12)

氏 名	なす けんたろう 那須 健太郎
学 位 の 種 類	博士 (医学)
学位授与年月日	平成 28 年 3 月 25 日
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 1 項
研 究 科 専 攻	東北大学大学院医学系研究科 (博士課程) 医科学専攻
学位論文題目	成人T細胞白血病リンパ腫(ATLL)における Carbonic Anhydrase IX (CA9)の造腫瘍性に関する研究
論文審査委員	主査 教授 張替 秀郎 教授 清水 律子 教授 海野 倫明

論 文 内 容 要 旨

成人T細胞白血病/リンパ腫 (ATLL, adult T-cell leukemia/lymphoma) は HTLV-I (human T-cell leukemia virus type I) 感染に起因する予後不良な血液腫瘍である。ウイルス感染から ATLL 発症までには数十年を要するが、その間の発症、悪性化の機序については、未だ不明な点が多く残されている。本研究では、免疫不全 NOG マウスにおける造腫瘍性を指標として、ATLL の造腫瘍性亢進に関わる機能分子の同定を試みた。

ATLL由来細胞株ST1 から樹立されたST1 亜株ST1-N6 は、NOGマウスに累代移植することで得られた造腫瘍性が高い株である。ST1-N6 細胞と親ST1 細胞に発現する遺伝子についてマイクロアレイを用いて比較解析したところ、炭酸脱水酵素CA9(carbonic anhydrase IX)の発現がST1-N6 細胞で著しく増強していた。この結果を基に、ST1 細胞からフローサイトメトリーを用いて、CA9 高発現細胞と低発現細胞とをそれぞれ分画し、ST1-CA9^{high}細胞株とST1-CA9^{low}細胞株を樹立した。これらST1 亜株をNOGマウスに皮下移植したところ、ST1-CA9^{high}細胞はST1-CA9^{low}細胞および親ST1 細胞と比較して、より高い造腫瘍性を示した。さらに、CA9 の発現を特異的に抑制するshRNAをST1-CA9^{high}細胞に導入すると、造腫瘍性が明らかに低下した。また、ST1 細胞ならびに別のATLL由来細胞株であるTL-Om1 細胞に対して、野生型CA9 発現ベクターを導入したところ、両細胞株で造腫瘍性の著明な増強を認めた。さらに、ST1 細胞ならびにST1-CA9^{low}細胞のNOGマウス移植で得られた腫瘍細胞のCA9 発現を解析

(書式12)

したところ、いずれにおいても移植前よりも明らかに発現が上昇していることが確認できた。次に、変異型CA9 をST1 細胞へ導入したところ、CA9 酵素活性欠失変異型とプロテオグリカン領域欠失変異型はいずれも野生型CA9 に比べて、造腫瘍性が低いことが確かめられた。また、細胞内領域欠失変異型は野生型CA9 と同様に高い造腫瘍性を示した。このことから、CA9 酵素活性ならびにプロテオグリカン領域がいずれも造腫瘍性に関わり、細胞内領域は造腫瘍性には関与していないことが明らかになった。

さらに、ATLL 原発腫瘍について CA9 発現を調べたところ、リンパ腫型 6 例中 2 例において CA9 発現がん細胞の存在が認められた。また、血清中 CA9 濃度を測定したところ、健常人によりも ATLL 患者において高い傾向がみられた。

以上のことから、ATLL 由来 ST1 細胞の造腫瘍性に CA9 が深く関わっていることが明らかであり、ATLL 原発腫瘍における CA9 発現と悪性形質との関連性が示唆された。

審 査 結 果 の 要 旨

博士論文題目 成人 T 細胞白血病リンパ腫 (ATLL) における Carbonic Anhydrase IX (CA9) の造腫瘍性に関する研究

所属専攻・分野名 医科学専攻 血液・免疫病学分野

学籍番号 B2 MD5097 氏名 那須健太郎

成人 T 細胞白血病リンパ腫 (ATLL, adult T-cell leukemia/lymphoma) は HTLV-I (human T-cell leukemia virus type I) 感染に起因する予後不良な血液腫瘍である。ウイルス感染から ATLL 発症までには数十年を要するが、その間の発症、悪性化の機序については、未だ不明な点が多く残されている。本研究では、免疫不全 NOG マウスにおける造腫瘍性を指標として、ATLL の造腫瘍性亢進に関わる機能分子の同定を試みた。

ATLL 由来細胞株 ST1 から樹立された ST1 亜株 ST1-N6 は、NOG マウスに累代移植することで得られた造腫瘍性が高い株である。ST1-N6 細胞と親 ST1 細胞に発現する遺伝子についてマイクロアレイを用いて比較解析したところ、炭酸脱水酵素 CA9(carbonic anhydrase IX) の発現が ST1-N6 細胞で著しく増加していた。ST1 細胞からフローサイトメトリーを用いて、CA9 高発現細胞と低発現細胞とをそれぞれ分画し、ST1-CA9^{high} 細胞株と ST1-CA9^{low} 細胞株を樹立した。これら ST1 亜株を NOG マウスに皮下移植したところ、ST1-CA9^{high} 細胞は ST1-CA9^{low} 細胞および親 ST1 細胞と比較して、より高い造腫瘍性を示した。さらに、CA9 の発現を特異的に抑制する shRNA を ST1-CA9^{high} 細胞に導入すると、造腫瘍性が明らかに低下した。また、ST1 細胞ならびに別の ATLL 由来細胞株である TL-Om1 細胞に対して、野生型 CA9 発現ベクターを導入したところ、両細胞株で造腫瘍性の著明な増強を認めた。さらに、ST1 細胞ならびに ST1-CA9^{low} 細胞の NOG マウス移植で得られた腫瘍細胞の CA9 発現を解析したところ、いずれにおいても移植前よりも明らかに発現が上昇していることが確認できた。次に、変異型 CA9 を ST1 細胞へ導入したところ、CA9 酵素活性欠失変異型とプロテオグリカン領域欠失変異型はいずれも野生型 CA9 に比べて、造腫瘍性が低いことが確かめられた。また、細胞内領域欠失変異型は野生型 CA9 と同様に高い造腫瘍性を示した。このことから、CA9 酵素活性ならびにプロテオグリカン領域がいずれも造腫瘍性に関わり、細胞内領域は造腫瘍性には関与していないことが明らかになった。

さらに、ATLL 原発腫瘍について CA9 発現を調べたところ、リンパ腫型 6 例中 2 例において CA9 発現がん細胞の存在が認められた。また、血清中 CA9 濃度を測定したところ、健常人よりも ATLL 患者において高い傾向がみられた。

以上のことから、ATLL 由来 ST1 細胞の造腫瘍性に CA9 が深く関わっていることが明らかであり、ATLL 原発腫瘍における CA9 発現と悪性形質との関連性が示唆された。本研究は ATLL の治療標的、バイオマーカーとしての CA9 の重要性を明らかにした研究であり、難治性血液腫瘍である ATLL の克服に向け臨床的に意義のある研究であると考えられる。

よって、本論文は博士（医学）の学位論文として合格と認める。